Aus der Blutbank der Freien Universität Berlin
im Klinikum Charlottenburg
(Leiter: Prof. Dr. med. Immo Hoppe)

EIGNUNG VERSCHIEDEN REZEPTIERTER STABILISATOREN FÜR DIE KONSERVIERUNG VON VOLLBLUT IN FLÜSSIGEM ZUSTAND

ERGEBNISSE VERGLEICHENDER IN-VITRO-MESSUNGEN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Ruth Thieroff
Berlin
1985

Aus der Blutbank der Freien Universität Berlin
im Klinikum Charlottenburg

(Leiter: Prof.Dr.med. Immo Hoppe)

EIGNUNG VERSCHIEDEN REZEPTIERTER STABILISATOREN FÜR DIE KONSERVIERUNG VON VOLLBLUT IN FLÜSSIGEM ZUSTAND
ERGEBNISSE VERGLEICHENDER IN-VITRO-MESSUNGEN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Ruth Thieroff

Berlin

1985

Referent: Prof.Dr.med. I. Hoppe
Korreferent: Prof.Dr.med. H. Brücher

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am 25.03.1985

Meinen Eltern und Frau Batonnet
gewidmet

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549619_0052

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	EINLEITUNG	1
2.	MATERIAL UND METHODEN	3
2.1.	Herstellung der Blutkonserven	3
2.2.	Entnahme von Einzelproben für Untersuchungszwecke	4
2.3.	Untersuchungsmethoden	5
2.3.1.	Bestimmung des ATP-Gehalts	5
2.3.1.1.	Enteiweißung der Proben	5
2.3.1.2.	Messung der ATP-Konzentration	5
2.3.2.	Bestimmung des 2,3-DPG-Gehalts	6
2.3.2.1.	Enteiweißung der Proben	6
2.3.2.2.	Messung der 2,3-DPG-Konzentration	7
2.3.3.	Messung der Hämoglobinkonzentration	8
2.3.4.	Messung der Kalium- umd Glucosekonzentration im Plasma	9
2.3.5.	pH-Messung	9
2.3.6.	Messung der Mikroaggregate	10
2.3.7.	Kontrolle der Sterilität der Konserven	12
2.3.8.	Statistische Methoden	12
3.	ERGEBNISSE	12
3.1.	2,3-DPG	12
3.2.	ATP	13
3.3.	pH-Wert	15
3.4.	Glucose	15
3.5.	Kalium	16
3.6.	Hämoglobin	17
3.7.	Mikroaggregate	17
4.	DISKUSSION	18
	ZUSAMMENFASSUNG	24
	TABELLEN UND ABBILDUNGEN	25
	LITERATURVERZEICHNIS	43
	LEBENSLAUF	48

1. EINLEITUNG

Die Konservierung von Blut in flüssigem Zustand mit einer Stabilisatorlösung ermöglicht es, Erythrozyten über einen Zeitraum von mehreren Wochen in einem transfusionsfähigen Zustand zu halten, während Leukozyten, Thrombozyten und Gerinnungsfaktoren bei dieser Art der Lagerung ihre Funktionsfähigkeit frühzeitig einbüßen.

Kriterien für die Qualität von Erythrozyten sind ein ausreichendes posttransfusionelles Überleben und eine intakte Sauerstofftransportfunktion. Die Überlebensrate transfundierter Erythrozyten ist eng mit der ATP-Konzentration verknüpft. ATP fällt bei der anaeroben Glykolyse an und liefert die Energie für die Aufrechterhaltung der bikonkaven Zellform und der Membranfunktionen. Die regelrechte Abgabe von Sauerstoff wird durch den 2,3-DPG-Gehalt der Erythrozyten beeinflußt. 2,3-DPG wird mit Hilfe einer Mutase aus 1,3-Diphosphoglycerat, einem Zwischenprodukt der Glykolyse, synthetisiert und bestimmt neben anderen Faktoren die Lage der Sauerstoffbindungskurve. Mit fallender 2,3-DPG-Konzentration steigt die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins.

Im Verlauf der Lagerung kommt es im Konservenblut zu Milieuveränderungen. Durch die Anhäufung von Lactat, dem Endprodukt der anaeroben Glykolyse, verschiebt sich der pH-Wert zum Sauren, d.h. zuungunsten des pH-Optimums der Hexokinase, Phosphofructokinase und 1,3-DPG-Mutase, so daß der Stoffwechsel schließlich zum Erliegen kommt. In der Folge sinkt der Gehalt an 2,3-DPG rasch, der Konzentrationsabfall von ATP geht langsamer vonstatten. Für die Blutkonserve resultiert eine Qualitätsminderung durch die erschwerte Sauerstoffabgabe und die verminderte Überlebensrate transfundierter Erythrozyten. Struktur und Funktion der Erythrozytenmembran nehmen Schaden, das intrazelluläre Ionenmilieu kann nicht aufrechterhalten werden. Die Erythrozyten machen einen Formwandel zu Sphärozyten

durch und werden aufgrund ihrer verminderten Deformierbarkeit im Empfängerorganismus beschleunigt abgebaut.

Dieser Lagerungsschaden kann durch Modifikation der Stabilisatorlösung hinausgezögert werden. Der Zusatz von Nukleosiden und Nukleotiden - Guanosin, Adenosin, Inosin und vor allem Adenin - verlangsamt den Abfall der ATP-Konzentration. Die Steigerung des Dextrosegehalts erhöht die Überlebensrate der Erythrozyten im Empfängerorganismus. Auf den 2,3-DPG-Gehalt sollen sich der Zusatz von Pyruvat, Inosin und anorganischem Phosphat sowie ein alkalischeres Milieu günstig auswirken. Mit dem Ziel, die Qualität von Blutkonserven länger zu erhalten, entstanden durch Substitution des Standardstabilisators ACD mit verschiedenen Kombinationen dieser Zusätze eine Vielzahl neuer Stabilisatorlösungen. Vergleichende Untersuchungen sollten die tatsächliche Verbesserung gegenüber ACD beweisen. Derartige Arbeiten beschränkten sich bisher auf den Vergleich einzelner Stabilisatoren oder befaßten sich mit experimentellen Blutzubereitungen. Mitunter wurden Blute verschiedener Spender direkt verglichen. Häufig untersuchte man Erythrozytenkonzentrate, bei deren Herstellung ein Teil der Zusätze mit dem Plasma entfernt wird, so daß die Ergebnisse nicht unmittelbar auf Vollblutkonserven übertragen werden können. In Unkenntnis ihrer Bedeutung blieben in früheren Arbeiten bestimmte Qualitätskriterien wie die Sauerstofftransportfunktion unberücksichtigt.

Ein anderer Aspekt des Lagerungsschadens ist die Formation von Mikroaggregaten aus gealterten Thrombozyten und Fibrin, Zellfragmenten und amorphen Substanzen. Mikroaggregate passieren Standardfilter mit einer Maschenweite von 170 µ und sollen durch Embolisierung kleinster Lungengefäße an der Pathogenese der Transfusionslunge beteiligt sein. Von Interesse und bisher wenig untersucht ist, ob die Zusammensetzung der Stabilisatorlösung das Ausmaß der Mikroaggregatbildung während der Lagerung beeinflußt.

Problemstellung:
Der Einfluß der unterschiedlichen Rezeptur von 6 routinemäßig verwendeten bzw. im Handel befindlichen Stabilisatorlösungen auf die Qualität von in Vollblut gelagerten Erythrozyten sollte untersucht werden. Ausgehend von der Rezeptur entweder des ACD oder des CPD war der Adenin- und Glucosegehalt der Stabilisatoren variiert. Der zeitliche Verlauf der erythrozytären ATP- und 2,3-DPG-Konzentration, des pH-Werts im Blut und der Kalium-, Hämoglobin- und Glusocekonzentration im Plasma sowie der Mikroaggregatbildung wurde gemessen. Aus den Ergebnissen dieser vergleichenden Untersuchung - der ersten ihrer Art - wurden verbindliche Empfehlungen hinsichtlich des zu verwendenden Stabilisators erwartet.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Herstellung der Blutkonserven

Zur Untersuchung gelangte Blut von Angehörigen des Spenderstamms der Blutbank des Klinikums Charlottenburg der Freien Universität Berlin. Mit Hilfe eines speziellen Entnahmebestecks wurden von jeweils einem Spender 480 ml Blut in Portionen von 80 ml in sechs 300 ml-Vakuumglasflaschen (Biotest) entnommen. Die Flaschen waren jeweils mit 11,2 bzw. 12 ml von sechs unterschiedlichen Stabilisatorlösungen (CPD, CPD-A, CPD-A_1, CPD-AD, ACD, ACD-A) (Tab. 1) beschickt. Zur Herstellung des Punktionsbestecks wurde der Entnahmeschlauch mit anhängender Kanüle von einem Blutkonservenbeutel (Biotest) abgeschnitten, die Stabilisatorlösung aus ihm ausgestrichen und das Schnittende über einen Luer-Konus-Adapter (Vygon) mit einer Strauß-Kanüle von 1,8 mm Durchmesser (Braun Melsungen) versehen.

Nach Venenpunktion mit abgeklemmtem System wurde der mit einem sterilen Alkoholtupfer (WEBCOL, Kendall) desinfizierte

Gummistopfen der ersten Konservenglasflasche durchstochen und die Klemme geöffnet, bis unter fortwährendem Mischen 80 ml Blut bis zu einer entsprechenden Markierung eingeströmt waren. Vor dem Wechsel zur jeweils nächsten Flasche wurde die Blutspende durch Abklemmen unterbrochen und die Straußkanüle ausgetauscht. Nach Füllen der letzten Konserve entnahm eine Hilfsperson aus dem liegenden System Material für die übliche Spenderdiagnostik sowie zusätzlich für die Bestimmung des Kalium- und Glucosewerts, um individuelle Abweichungen vom Normalbereich auszuschließen. Währenddessen wurden Stabilisatorlösung und Blut noch einmal gut durchmischt, das Restvakuum mit einer sterilen Belüftungsgarnitur (Braun Melsungen) beseitigt und der Gummistopfen mit einem sterilen Alkohol- und einem Zellstofftupfer, fixiert durch einen Leukosilkstreifen (Beiersdorf), abgedeckt. Während des Untersuchungszeitraums wurden die Konserven lichtgeschützt in einer erschütterungsfreien Kühlkammer bei +4° C gelagert.

2.2. Entnahme von Einzelproben für Untersuchungszwecke

Die zu untersuchenden Proben wurden in einer Laminar-Air-Flow-Box (Meissner und Wurst bzw. Gelman) entnommen. Nachdem die Erythrozyten durch Schwenken der Konserven im Plasma resuspendiert und die Abdeckung der Gummistopfen entfernt worden war, wurden mit Spritzen (2 bzw. 10 ml) und Straußkanülen von 1,5 mm Durchmesser (Braun Melsungen) die erforderlichen Volumina abgezogen und sofort in eisgekühlte Glasröhrchen eingegeben. Dienten die entnommenen Proben der Messung der Mikroaggregate, so wurde das entnommene Blut vorfiltriert. Dazu wurde zwischen Kanüle und Spritze über einen Luer-Lock-Adapter (Braun Melsungen) ein Kindertransfusionsgerät KNO (Biotest) mit der Maschenweite 170 µ eingebracht und das Blut in der Spritze auf Raumtemperatur erwärmt. Anschließend wurden die Flaschen in gleicher Weise wie nach der Blutspende desinfiziert, abgedeckt und in die Kühlkammer verbracht.

2.3. Untersuchungsmethoden

2.3.1. Bestimmung des ATP-Gehalts

2.3.1.1. Enteiweißung der Proben

In einem 10 ml-Spitzboden-Zentrifugenröhrchen aus Glas wurden 4,0 ml eiskalter, 0,6n Perchlorsäure (Boehringer Mannheim) mit 1 ml Blut versetzt, nach Ausspülen der Pipettenspitze durch mehrmaliges Aufziehen und Ausblasen mit einem Plastikstäbchen gut durchmischt und 10 Minuten bei 1300 g zentrifugiert (Minifuge, Heraeus-Christ). 1 ml des Überstands wurde mit einer 1000 µl-Kolbenhubpipette (Eppendorf) abgehoben und in Eppendorf-Reaktionsgefäßen bei -80° C eingefroren. Unter derartigen Tiefkühlbedingungen blieb die Substratkonzentration in der Probe über Monate konstant (21).

2.3.1.2. Messung der ATP-Konzentration

Der ATP-Gehalt wurde photometrisch (Eppendorf) nach der Methode von Bücher (4) unter Verwendung der "Testkombination ATP" (Boehringer Mannheim) mit jeweils frisch angesetzten Reagenzien ermittelt. Für jeden neuen Testsatz war es erforderlich, einen Leerwert mit Aqua bidest. mitzuführen. Der ATP-Gehalt in der Probe bedingte die Abnahme der NADH-Konzentration, die als Extinktionsänderung bei Licht der Wellenlänge 365 nm und einer Temperatur von 20° - 25° C in Glasküvetten der Schichtdicke 1 cm gegen Luft gemessen wurde.

Reaktionsgleichungen:

(1) $3\text{-PG} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{PGK}} 1,3\text{-DPG} + \text{ADP}$

(2) $1,3\text{-DPG} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{GAPDH}} \text{GAP} + \text{NAD}^+ + \text{P}_i$

(3) GAP $\xrightarrow{TIM}$ DAP

(4) DAP + NADH + H^+ $\xrightarrow{GDH}$ Glycerin-3-P + NAD^+

Die Reaktionen (1-4) sind unter 2.3.2.2. beschrieben.

2.3.1.3. Berechnung der ATP-Konzentration

Bei der Berechnung wurde im Interesse einer besseren Vergleichbarkeit der Werte verschiedener Spender der ATP-Gehalt der Proben auf deren Hämoglobinkonzentration bezogen. Die Konzentration von ATP in µmol/g Hb errechnete sich nach folgender Formel:

$$c_{ATP} = (\Delta E - \Delta E_L) \cdot 862,7 / c_{Hb}$$

ΔE ist die Extinktionsänderung der Proben, ΔE_L die des Leerwerts, c_{Hb} ist die Konzentration von Hämoglobin in g %. In der Konstanten sind Probenvolumen, Molekulargewicht der zu bestimmenden Substanz, Schichtdicke, Extinktionskoeffizient des NADH und der Verdünnungsfaktor enthalten.

2.3.2. Bestimmung des 2,3-DPG-Gehalts

2.3.2.1. Enteiweißung der Proben

In einem Zentrifugenröhrchen wurden 5,0 ml eiskalter, 0,6n Perchlorsäure mit 1 ml Blut wie oben gemischt und sofort bei 4° C und 1300 g zentrifugiert; 4 ml des Überstands wurden mit einer 5 ml-Meßpipette unter Zuhilfenahme eines Peleusballs mit 0,5 ml 2,5m Kaliumcarbonatlösung (Apotheke des Klinikums Charlottenburg der Freien Universität Berlin) neutralisiert, mindestens 30 Minuten in Eiswasser gehalten und erneut wie

oben beschrieben zentrifugiert. 1 ml des Überstands wurden wie bei der ATP-Messung abgehoben und bei -80° C eingefroten (21).

2.3.2.2. Messung der 2,3-DPG-Konzentration

Die 2,3-DPG-Konzentration wurde nach der Methode von Ericson und de Verdier (13) unter Verwendung der "Testkombination 2,3-DPG" (Boehringer Mannheim) photometrisch bestimmt, wobei wie bei der ATP-Messung die Reagenzien jeweils frisch zubereitet und ein Leerwert mit ermittelt wurde. Gemessen wurde wiederum die Konzentrationsabnahme von NADH, die mit dem 2,3-DPG-Gehalt der Probe gekoppelt war, als Extinktionsänderung unter denselben Bedingungen wie oben.

Reaktionsgleichungen:

(1) 2,3 DPG $\xrightarrow[\text{Glycolat-2-P}]{\text{PGM}}$ PG + P_i

2,3-DPG wird durch eine mit Glycolat-2-Phosphat aktivierte Nebenaktivität der Phosphoglyceratmutase (PGM) zu Phosphoglycerat (PG) und Phosphat (P_i) gespalten. Es kann sowohl 2-PG wie 3-PG entstehen. 2-PG wird durch die Phosphoglyceratmutase zu 3-PG isomerisiert (2), 3-PG wird durch die Phosphoglyceratkinese (PGK) phosphoryliert (3), 1,3-DPG durch die Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase hydriert (4), Glycerinaldehyd-3-Phosphat durch die Trioseisomerase (TIM) isomerisiert (5) und Dihydroxyacetonphosphat durch die Glycerin-3-Phosphat-Dehydrogenase (GDH) hydriert (6), wobei pro Mol 2,3-DPG 2 Mol NADH oxydiert werden.

(2) 2-PG $\xrightarrow{\text{PGM}}$ 3-PG

(3) 3-PG + ATP $\xrightarrow{\text{PGK}}$ 1,3-DPG + ADP

(4) $1,3\text{-DPG} + NADH + H^+ \xrightarrow{GAPDH} GAP + NAD^+ + P_i$

(5) $GAP \xrightarrow{TIM} DAP$

(6) $DAP + NADH + H^+ \xrightarrow{GDH} \text{Glycerin-3-P} + NAD^+$

Die Reaktionen (2-6) wurden wegen möglicherweise im Ansatz vorhandener Substrate zuerst ausgeführt. Dabei war die PGM-Menge so gering, daß der Reaktionsablauf (1) noch nicht in Gang kam.

2.3.2.3. Berechnung der 2,3-DPG-Konzentration

Aus denselben Gründen wie bei der Berechnung des ATP-Gehalts wurde die 2,3-DPG-Konzentration auf den Hämoglobinwert der Probe bezogen. Der 2,3-DPG-Gehalt in µmol/g Hb wurde nach der Formel

$$c_{2,3\text{-DPG}} = (\Delta E - \Delta E_L) \cdot 2168 / c_{Hb}$$

errechnet. Die Parameter stehen für die gleichen Größen wie bei der ATP-Berechnung.

2.3.3. Messung der Hämoglobinkonzentration

Hämoglobin wurde nach der Hämoglobincyanidmethode (40) photometrisch bestimmt, wobei für die Messung im Konservenblut 20 µl, für die Messung im Plasma 1 ml als Probenvolumen einzusetzen sind und sich der Verdünnungsfaktor dementsprechend verändert (21).

2.3.4. Messung der Kalium- und Glucosekonzentration im Plasma

10 ml Konservenblut wurden 10 Minuten bei 1300 g zentrifugiert, das Plasma mit einer Kolbenhubpipette abgehoben und je 1 ml in Eppendorf-Reaktionsgefäßen bei -80° C eingefroren, so daß zunächst Proben von mehreren Spendern gesammelt werden konnten.

Kalium wurde potentiometrisch mit einer ionenselektiven Elektrode ("Stat-Ion", Technicon) gemessen, Glucose nach der Glucose-Hexokinasemethode unter Verwendung der Testkombination "Gluco-Quant" (Boehringer Mannheim) mit dem "Auto-Analyzer II" (Technicon) bestimmt. Die Proben mußten in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer der Konserve mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung (Braun Melsungen) verdünnt werden, damit die Geräte innerhalb eines akzeptablen Präzisionsbereichs arbeiteten. Am Tag 0 war keine Verdünnung erforderlich; am 10. Tag wurden 200 µl Plasma mit 500 µl Natriumchloridlösung, am 20. Tag 200 µl Plasma mit 1000 µl Natriumchloridlösung und am 30. Tag 150 µl Plasma mit 1000 µl Natriumchloridlösung verdünnt.

2.3.5. pH-Messung

Der Blut-pH-Wert wurde potentiometrisch mit einem pH-Meter (Knick) bestimmt, dessen Skala zuvor mit Pufferlösungen des pH-Werts 4 und 7 geeicht worden war. In ein Zentrifugenröhrchen wurde 1 ml Blut transferiert und nach Erwärmung auf Raumtemperatur die Glaselektrode eingetaucht. Die Zahl, die als erste auf der digitalen Anzeige über 15 Sekunden konstant blieb, galt als Meßwert. Vor jedem Wechsel zur nächsten Probe mußte die Glaselektrode gründlich mit Aqua ad iniect. (Braun Melsungen) abgespült werden.

2.3.6. Messung der Mikroaggregate

Die Mikroaggregate wurden in einer Modifikation der Methode von Walker (42) bestimmt. Bei dieser Arbeitsweise wird die Größe und Menge der Mikroaggregate im Konservenblut als Gewicht von Rückstandsmengen filtrierten Bluts auf Siebfiltern unterschiedlicher Porosität ermittelt.

Als Siebfilter dienten Nylonmembranen von 26 mm Durchmesser, die mit einem Rundeisen (Werkstatt der Experimentellen Chirurgie des Universitätsklinikums Charlottenburg) ausgestanzt, nach Spülung in Aqua ad iniect. und Trocknung mit einer Analysenwaage (H 54, Mettler) gewogen und in Swinnex-25-Filtergehäuse (Biotest) bzw. Polypropylen-Filtrationsvorsätze (Sartorius) eingelegt wurden.

Um eine Gegenstromfiltration durchführen zu können, wurde eine Versuchsapparatur mit kommunizierenden Röhren konstruiert (Abb. 1). Jeweils 3 aufeinandergesteckte Filtergehäuse enthielten Membranen der Maschenweite 50 µ (F_1), 20 µ (F_2) und 11 µ (F_3). Sie waren auf beiden Seiten mit 20 ml-Einmalspritzen (Braun Melsungen) (S_1 und S_2) verbunden, aus denen der Spritzenkolben entfernt worden war, und zwar auf der Seite von F_1 durch ein 3 cm, auf der Seite von F_3 durch ein 60 cm langes PVC-Schlauchstück, abgeschnitten von einem Überleitungsgerät (Biotest). Die Filter selbst folgten einander in einem Abstand von 3 cm. Die Spritze S_1 war in einem Stativ befestigt; durch Heben und Senken der Spritze S_2 konnten auf die Filterebene von F_1 und aller nachfolgender Filter definierte hydrostatische Drucke ausgeübt werden.

Vor der Filtration von Blut mußte das System zur Entfernung von Luftblasen zunächst mit 20 ml 0,9 %iger Natriumchloridlösung gespült werden. Sobald der Flüssigkeitsspiegel den Boden der Spritze S_1 erreicht hatte, wurde der Durchlauf durch Abklemmen des Schlauchs oberhalb des Filters F_1 unterbrochen

und auf diese Weise die Belüftung der Filter verhindert. Dann wurde die jeweilige Blutprobe in die Spritze S_1 gefüllt und die Spritze S_2 auf die Höhe h (Abb. 1) unterhalb der Filterebene F_1 gebracht. Das filtrierte Volumen war aufgrund der begrenzten Filterkapazität abhängig von der Lagerungsdauer der Konserve. Nach Öffnen der Klemme strömte das Blut über die Filterkaskade durch den Schlauch in die Spritze S_2. Die Filtration wurde wie oben beendigt und der Inhalt der Spritze S_2 verworfen.

Um Bluteiweiße und nicht aggregierte Blutbestandteile auszuwaschen, schlossen sich mehrere Spülvorgänge mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung an. Zunächst wurden 10 ml nachgegeben, dann dreimal mit 10 ml der Filterrückstand durch Gegenstromfiltration resuspendiert. Dazu mußte die Spritze S_2 mit je 10 ml der Natriumchloridlösung gefüllt und auf die Höhe h' (Abb. 1) oberhalb der Filterebene F_1 angehoben werden, so daß die Spüllösung in Umkehrung der Filtrationsrichtung in die Spritze S_1 floß. Senken der Spritze S_2 auf die Höhe h bewirkte erneute Filtration: das in der Spritze S_2 befindliche Filtrat wurde zwischen den einzelnen Arbeitsschritten jeweils verworfen. Anschließend wurden erneut 10 ml 0,9 %iger Natriumchloridlösung in Filtrationsrichtung nachgegeben. Schließlich wurden mit 40 ml Aqua ad iniect. die Kochsalzreste entfernt. Dann wurden die Filtergehäuse aufgeschraubt, die Membranen mit einer Membranpinzette (Sartorius) herausgenommen, auf glattem weißem Papier, staubgeschützt in Petrischalen, zwei Tage bei 37° C (Brutschrank, Heraeus) und zwei Tage bei Raumtemperatur getrocknet und danach ihr Gewicht mit der Analysenwaage ermittelt.

Um einen einheitlichen Trocknungsgrad der Membranen voraussetzen zu können, wurde ein Kontrollfiltersatz nur mit den Spüllösungen - 70 ml 0,9 %ige Natriumchloridlösung und 40 ml Aqua ad iniect. - beschickt und wie oben getrocknet. Sobald diese Leerfilter ihr Ausgangsgewicht erreicht hatten, galt der Trocknungsvorgang als abgeschlossen.

2.3.7. Kontrolle der Sterilität der Konserven

Am Ende der Lagerung wurde die Keimfreiheit jeder Blutkonserve durch Sterilkontrollen (Medizinaluntersuchungsamt II, Berlin 19) überprüft.

2.3.8. Statistische Methoden

Aus den Meßergebnissen von 3 bis 6 Stabilisatoren wurden in Abhängigkeit von der Meßgröße Gruppen gebildet und die Meßwerte nach der Friedmanschen Rangvarianzenanalyse für mehrere abhängige Stichproben (35) getestet. Die Nullhypothese wurde verworfen, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 5 % war. In diesem Falle wurden die Stabilisatoren paarweise mit dem Wilcoxontest für abhängige Stichprobenpaare (35) auf signifikante Unterschiede geprüft. Bei widersprüchlichen Ergebnissen der beiden Tests war der Friedmantest dem Wilcoxontest übergeordnet.

3. ERGEBNISSE

3.1. 2,3-DPG

Die 2,3-DPG-Konzentration der Erythrozyten in Abhängigkeit vom Stabilisator wurde am 1., 3., 7., 9., 12., 14., 21., 28. und 35. Lagerungstag gemessen (n = 4-10) (Tab. 2, Abb. 2).

Von Beginn an zeigten phosphathaltige (CPD-) und phosphatfreie (ACD-) Proben ein unterschiedliches Verhalten. In CPD und seinen Varianten lagen die Ausgangswerte um 14,5 µmol/g Hb und blieben bis zum 9. Tag auf nahezu gleichem Niveau. Danach sank die 2,3-DPG-Konzentration rasch ab, war um den 14. Tag auf die Hälfte vermindert und erreichte am 21. Tag Werte nahe 0. In ACD und ACD-A lagen schon die Ausgangswerte mit

12 µmol/g Hb niedriger. Ein eindeutiges initiales Konzentrationsplateau fehlte. Der 2,3-DPG-Gehalt fiel ab Tag 3 steil ab, erreichte die 50 %-Marke um den 9. Tag und stieß bereits am 14. Tag auf die Abszisse.

Der Unterschied zwischen phosphathaltigen und phosphatfreien Stabilisatoren war bis zum Tag 21 signifikant (Tab. 8) und in der 2. Woche am ausgeprägtesten. Am 9. Tag war der 2,3-DPG-Gehalt in den 4 verschiedenen CPD-Stabilisatoren um rund 5 µmol/g Hb höher als in den ACD-Konserven. Gegenüber den ACD-A-Konserven betrug die Differenz sogar rund 9 µmol/g Hb. Am Ende der 2. Woche war im ACD- und ACD-A-Blut die 2,3-DPG-Konzentration auf 1,46 bzw. 0,60 µmol/g Hb abgesunken, während ähnlich niedrige Werte in den CPD-Konserven erst am 21. Tag erreicht wurden.

Die phosphathaltigen Stabilisatoren unterschieden sich in ihrer Fähigkeit, höhere 2,3-DPG-Spiegel zu erhalten, statistisch gesehen bis zum Tag 14 nicht voneinander (Tab. 13a), wenn auch ab dem 3. Tag die niedrigen Konzentrationen im CPD-AD-Blut auffielen. Vom Tag 14 an zeigte sich die Überlegenheit des adeninfreien CPD-Stabilisators gegenüber CPD-AD ($p \leq 0,01$) und CPD-A_1 ($p \leq 0,05$) (Tab. 8) und am Tag 21 gegenüber allen adeninhaltigen CPD-Stabilisatoren ($p \leq 0,05$) (Tab. 13a). Allerdings war zu diesem Zeitpunkt die 2,3-DPG-Konzentration so niedrig, daß dem Unterschied keine praktische Bedeutung mehr zukam. Bei den phosphatfreien Konserven äußerte sich der negative Effekt des Adenins auf den 2,3-DPG-Gehalt sofort. Zu allen Zeitpunkten lagen die Konzentrationen in ACD signifikant über jenen der ACD-A-Konserven (Tab. 8).

3.2 ATP

Das Verhalten der ATP-Konzentration in Abhängigkeit vom Stabilisator wurde am 1., 3., 7., 14., 21., 28., 35. und 42. La-

gerungstag beobachtet (n = 4-9) (Tab. 3, Abb. 3).

Bei Ausgangswerten von 2,77 µmol/g Hb (CPD-A) bis 3,49 µmol/g Hb (CPD-AD) war in der ersten Lagerungswoche für alle Stabilisatoren eine erhebliche Bewegung der Werte zu beobachten. Eine Aussage darüber, ob für die adeninhaltigen Konserven ein initiales Plateau oder eine insgesamt langsamere Abnahmegeschwindigkeit als für die adeninfreien Konserven bestand, war deshalb nicht möglich. Vom Tag 7 an war in allen adeninhaltigen Konserven ein höherer ATP-Gehalt meßbar als in ACD und, noch deutlicher, in CPD. In der Folge fiel die ATP-Konzentration der adeninhaltigen Konserven etwa parallel und mit konstanter Geschwindigkeit und verminderte sich nach 42 Tagen Lagerung auf 40 % des Anfangswertes. ACD und vor allem CPD zeigten eine ebenfalls gleichmäßige, aber etwas raschere Abnahme auf schließlich rund 33 bzw 25 % des Ausgangswertes.

Dem entsprachen die Ergebnisse der statistischen Tests (Tab. 9, 13b). CPD und ACD zeigten ab dem 14. Tag Unterschiede zu einzelnen adeninhaltigen Stabilisatoren ($p \leq 0,05$). Ab dem 21. Tag war der Abstand zwischen der Gruppe der adeninhaltigen und der adeninfreien Stabilisatoren eindeutig signifikant ($p \leq 0,05$ bzw. $p \leq 0,01$).

Der statistische Vergleich der adeninsubstituierten Stabilisatoren untereinander ließ für keinen von ihnen einen dauerhaften Vorteil erkennen. Punktuell signifikante Unterschiede wie z.B. zwischen ACD-A und CPD-A ($p \leq 0,05$) und CPD-AD ($p \leq 0,01$) am Tag 28 erlaubten keine allgemeine Wertung. Auch die beiden nicht substituierten Stabilisatoren zeigten untereinander keine einheitlich signifikanten Unterschiede, mit Ausnahme der Befunde vom 21. Tag ($p \leq 0,05$).

3.3 pH-Wert

Die Änderung des pH-Werts in Abhängigkeit vom Stabilisator wurde an den Tagen 0, 10, 12, 15, 18, 20, 25, 30 und 40 der Lagerung verfolgt (n = 2-7) (Tab. 4, Abb. 4).

Wie aufgrund des höheren Citronensäuregehalts zu erwarten war, lagen die pH-Werte in den ACD- und ACD-A-Konserven zu Beginn der Lagerung niedriger als in den 4 Varianten von CPD-Konserven (pH am Tag 0 = 7,10 bzw. 7,30). In den CPD-Konserven nahm der pH bis zum Tag 20 rasch und gleichmäßig um ca. 0,25/10 Tage ab und blieb von da an auf einem Niveau von 6,8. In den beiden ACD-Konserven nahm der pH während der ersten 10 Tage ebenso schnell ab, sank aber bis zum Tag 20 nur noch um 0,15 auf ca. 6,7 und erfuhr danach keine Veränderung mehr.

Signifikant war die Differenz zwischen der Gruppe der ACD- und CPD-Stabilisatoren allerdings nur am 10. Tag ($p \leq 0,05$), während an den übrigen Meßtagen abwechselnd ACD (Tag 20) oder ACD-A (Tag 30) zu sämtlichen oder nur zu den adeninhaltigen Stabilisatoren der CPD-Gruppe signifikant niedrigere pH-Werte aufwies (Tab. 10). Waren schon die Unterschiede zwischen CPD- und ACD-Stabilisatoren trotz des eindeutig abweichenden Kurvenverlaufs kaum statistisch zu belegen, so unterschieden sich die beiden Gruppen untereinander erst recht nicht.

3.4. Glucose

Die Glucosekonzentration in Abhängigkeit vom Stabilisator wurde an den Tagen 0, 10, 20 und 30 (n = 7) sowie am Tag 40 (n = 2) der Lagerung ermittelt (Tab. 5, Abb. 5).

Der Verlauf der Glucosekonzentration in den 4 CPD-Stabilisatoren entsprach ihrem unterschiedlichen Dextrosegehalt. Von Beginn an lagen die Werte weit auseinander, zwischen 279 mg %

(CPD-A) und 450 mg % (CPD-AD). Bis zum Tag 20 nahm der Glucosegehalt aller CPD-Konserven gleichmäßig schnell um rund 40 % des Ausgangswertes ab, dann verringerte sich die Rate des Glucosedurchsatzes auf die Hälfte. ACD und ACD-A, deren Gehalt an Dextrose dem von CPD und CPD-A entsprach, zeigten ein abweichendes Verhalten. Im ACD-A-Blut lagen die Anfangswerte unerwartet hoch, ähnlich denen von CPD-A_1 (um 400 mg %). Der Glucoseverbrauch verlief dann den CPD-Bluten parallel. Die Ausgangswerte für ACD glichen erwartungsgemäß den Werten für CPD und CPD-A. Die Glucoseabnahme verlief aber konstant langsamer, so daß im ACD-Blut nach 40 Tagen nur ein Drittel der Glucose verstoffwechselt war gegenüber 50 % in allen anderen Konserven.

Die Relation der 4 CPD-Konserven zueinander ließ sich statistisch belegen (Tab. 11), während das Verhalten in ACD und ACD-A sich nicht systematisieren ließ. Die Differenz zwischen CPD-AD und CPD-A_1 mit 1,5 bzw. 1,25-fachem Dextrosegehalt des CPD-Stabilisators war an allen Meßtagen signifikant ($p \leq 0,05$). Beide Stabilisatoren unterschieden sich wiederum von CPD an den Tagen 0 und 10 und von CPD-A an den Tagen 0, 10 und 20 ($p \leq 0,05$). CPD und CPD-A mit gleichem Dextrosegehalt zeigen keine statistisch signifikanten Differenzen.

3.5. Kalium

Die Zunahme des Kaliumgehalts im Plasma als Ausdruck der Hämolyse wurde in Abhängigkeit vom Stabilisator an den Tagen 0, 10, 20 und 30 (n = 7) sowie am Tag 40 (n = 2) der Lagerung gemessen (Tab. 6, Abb. 6).

Die für alle Stabilisatoren annähernd gleiche Anfangskonzentration von ca. 3,6 mval/l nahm schon in den ersten 10 Tagen in den CPD-Konserven mit und ohne Adeninzusatz um das Sechsfache, in den ACD- und ACD-A-Konserven um das Fünffache zu.

Die weitere Erhöhung des Plasmakaliums verlief wesentlich langsamer, um durchschnittlich 5,0 mval/l pro 10 Tage. Gleichzeitig nivellierten sich die anfänglich signifikanten Unterschiede (Tab. 12) zwischen der ACD- und CPD-Gruppe. Die Endkonzentration lag in allen Konserven um 35 mval/l.

3.6. Hämoglobin

Der Hämoglobingehalt des Plasmas als zweiter Indikator der Hämolyse wurde in Abhängigkeit vom Stabilisator am Tag 0 (n = 7) und an den Tagen 10, 20 und 30 (n = 5) ermittelt (Tab. 7, Abb. 7). Statistische Tests wurden aufgrund des kleinen Stichprobenumfangs nicht durchgeführt.

Alle Stabilisatoren zeigten eine ähnliche Hämolyserate: zu Beginn lag das Plasmahämoglobin bei 70 mg %, bis zum Tag 10 verdoppelte sich die Ausgangskonzentration, nahm während der nächsten 10 Tage nur mäßig um 50 mg % zu und erfuhr bis zum 30. Tag einen zweiten steilen Anstieg um 100 mg %. Die Werte für ACD und ACD-A lagen stets an der oberen Grenze der Kurvenschar.

3.7. Mikroaggregate

Das Trockengewicht der Rückstände von 10 bis 20 ml filtrierten Bluts auf Siebfiltern der Maschenweite 11 µ, 20 µ und 50 µ wurde für CPD aus 3, für die anderen Stabilisatoren aus 2 Spenderbluten ermittelt (Abb. 8a-d). Statistische Tests entfielen wegen der geringen Stichprobenzahl.

Insgesamt betrachtet (Abb. 8d) nahmen die Rückstandsmengen während der ersten drei Lagerungstage stark, in der Folge kaum noch zu. Mit allem gebotenem Vorbehalt, der durch die geringe Spenderzahl und die große Variationsbreite gegeben

war, schien dennoch das Ausmaß der Mikroaggregatbildung in ACD und ACD-A geringer. Addierte man beispielsweise die Trokkengewichte aller Untersuchungstage, so lag das Gesamtgewicht zurückgehaltenen Materials für ACD-A bei 2500 µg, d.h. um rund 500 µg unter dem entsprechend zusammengefaßten Wert für die Gruppe der CPD-Konserven.

Auch die Aufschlüsselung der Ergebnisse nach Maschenweite der Filter ergab keine eindeutigen Unterschiede zwischen den 6 verschiedenen Stabilisatoren. Es deutete sich allenfalls an, daß ACD und ACD-A eher zur Bildung kleiner, die 4 Typen von CPD zur Bildung eher größerer Mikroaggregate führten (vgl. Abb. 8a mit Abb. 8b und c). Das Gewicht der 11 µ-Filter nahm in 14 Tagen von 0 - 260 µg/100 ml Blut auf 127 - 430 µg zu. Bei gleichen Anfangswerten stieg das Gewicht der 20 µ-Filter auf 247 - 587 µg, das der 50 µ-Filter auf 120 - 1187 µg. Die Zahlen belegen deutlich die erhebliche Meßbreite.

4. DISKUSSION

In Vollblutkonserven, die mit 6 in ihrem Adenin-, Dextrose- und Phosphatgehalt sowie in ihrer Acidität differierenden Stabilisatorlösungen (ACD, CPD, ACD-A, CPD-A, CPD-A_1, CPD-AD) hergestellt worden waren, wurden zeitabhängig die erythrozytäre ATP- und 2,3-DPG-Konzentration und der pH-Wert im Blut gemessen, das quantitative Verhalten des Kalium-, Glucose- und Hämoglobingehalts im Plasma beobachtet und die Mikroaggregatbildung untersucht.

2,3-DPG wurde durch CPD und seine Varianten länger erhalten als durch ACD und ACD-A. Der Abfall der ATP-Konzentration konnte durch Adeninsubstitution verzögert werden. Die Steigerung der Dextrosekonzentration hatte auf keinen der gemessenen Parameter Einfluß.

CPD unterscheidet sich von ACD durch den Zusatz von anorganischem Phosphat und durch eine geringere Acidität (15). Der höhere 2,3-DPG-Gehalt wird auf den höheren pH-Wert von CPD mit einem günstigeren Milieu für die 1,3-DPG-Mutase zurückgeführt (10, 22). Phosphat erhöht zwar den Durchsatz bei Teilreaktionen der Glykolyse, die der Synthese von 2,3-DPG vorangehen (30), scheint aber dennoch für diesen Parameter keinen (10) oder sogar einen negativen Effekt (25) zu haben. 2,3-DPG soll die Sauerstoffaffinität herabsetzen (5), indem es durch Bindung an Desoxyhämoglobin dessen quaternäre Struktur stabilisiert (28). Sauerstofftransport und -abgabe unterliegen aber ganz wesentlich auch anderen Regulationsmechanismen (20), so daß die klinische Relevanz hoher intraerythrozytärer 2,3-DPG-Spiegel immer wieder in Frage gestellt wurde (6, 18, 19). In Grenzsituationen, bei Versagen anderer Kompensationsmechanismen, scheint der intraerythrozytäre 2,3-DPG-Gehalt jedoch entscheidende Bedeutung für die Sauerstoffversorgung zu erlangen (8). Der von uns gefundene Vorteil von CPD gegenüber ACD im Hinblick auf den 2,3-DPG-Gehalt wird von vielen Untersuchungen bestätigt (41) und bleibt auch von den Autoren unbestritten, die andere Mitteilungen über die Kinetik der 2,3-DPG-Abnahme machten. Unsere Werte deckten sich mit denen von Shafer (33), während nach Dawson (10) die 2,3-DPG langsamer, nach Messeter (23) und Combrisson (9) schneller abfällt als wir es beobachteten.

Im Gegensatz zu der eindeutigen Verbesserung der Sauerstofftransportfunktion blieb die Verlängerung des in-vitro- und in-vivo-Überlebens durch CPD gegenüber ACD umstritten (41). In dieser Arbeit wurden zwischen beiden Stabilisatoren keine signifikanten Unterschiede im Hämolyseverhalten und im ATP-Gehalt festgestellt.

Vielmehr zeigte sich die ATP-Konzentration vom Adeninzusatz abhängig. Adenin ermöglicht durch Reaktion mit 5-Phosphoribosyl-1-Pyrrophosphat zu AMP die Synthese von ATP, wenn die

Energieproduktion durch anaerobe Glykolyse bereits sistiert (39). Da der intraerythrozytäre ATP-Gehalt eng mit der Überlebensrate transfundierter Erythrozyten korreliert ist (27), können Blutkonserven mit adeninhaltigen Stabilisatoren einige Wochen länger gelagert werden als mit dem herkömmlichen ACD-Stabilisator (44).

Die Adeninkonzentrationen der hier verwendeten Stabilisatoren waren folgendermaßen gestaffelt: CPD und ACD enthielten kein Adenin, CPD-A und CPD-A_1 enthielten 0,25 mmol, CPD-AD 0,4 mmol und ACD-A 0,5 mmol Adenin als Endkonzentration in der Konserve. Unsere Ergebnisse zeigten, daß nur der Adeninzusatz an sich, nicht aber die Menge des Adenins für die Höhe des ATP-Gehalts ausschlaggebend waren. Der Grenzwert von 1,5 µmol ATP/g Hb, der mit der geforderten Überlebensrate von 70 % korreliert (12), wurde von CPD nach dem 21. Tag, von ACD nach dem 28. Tag und von den 4 adeninsubstituierten Stabilisatoren erst nach dem 35. Tag unterschritten (Tab. 3). Der Unterschied zwischen adeninfreien und adeninhaltigen Stabilisatorlösungen war vom Tag 21 an signifikant (Tab. 9). Somit stehen die hier gefundenen Ergebnisse im Einklang mit früheren Arbeiten, denen zufolge schon 0,25 mmol Adenin als Endkonzentration in der Konserve für eine fünfwöchige Lagerung von Vollblut ausreichend ist (16). Es ist zwar bekannt (36), daß erst die dreifache Adeninkonzentration von 0,75 mmol im Hinblick auf die posttransfusionelle Überlebensrate optimal ist. Eine derart hohe Adeninmenge könnte jedoch u.U. toxische Wirkungen auf den Empfänger haben (43), und mit steigender Adeninkonzentration erhöht sich die Geschwindigkeit des 2,3-DPG-Abfalls (1). Auch nach unseren Ergebnissen (Tab. 8, 13) waren die adeninfreien Stabilisatoren stets (ACD) bzw. ab Tag 14 (CPD) ihren adeninsubstituierten Varianten hinsichtlich der 2,3-DPG-Konzentration überlegen, wobei der Unterschied mit zunehmendem Adeningehalt wuchs. Adenin erhöht den ADP/ATP-Quotienten (36), so daß 1,3-DPG unter Freisetzung von ATP bevorzugt zu 3-Phosphoglycerat abgebaut und nicht zu 2,3-DPG

umgewandelt wird (29). Die Dosisabhängigkeit des negativen Effekts von Adenin auf den 2,3-DPG-Gehalt wäre hypothetisch damit zu erklären, daß wohl die ADP-, nicht aber die ATP-Konzentration mit steigender Adeninkonzentration zunimmt.

Neben Adenin hat der Glucosegehalt als weitere Variable der Stabilisatorzusammensetzung Einfluß auf die Lagerungsdauer einer Blutkonserve. 1916 gelang es Rous und Turner (32), Blut mit einer Citrat-Saccharose-Lösung 2 Wochen zu konservieren, während in dem Antikoagulans Citrat allein nach 1 Woche nur noch 50 % der Erythrozyten überlebten (31). Über die optimale Glucosemenge ist man sich seither uneinig.

Die Erythrozyten decken ihren Energiebedarf in vivo zu 90 % durch anaerobe Glykolyse (3). Die Glucosekonzentration würde dann zum begrenzenden Faktor der Lagerung, wenn für die Hexokinase keine Sättigung mit ihrem Substrat bestünde und damit die Geschwindigkeit der Glucosephosphorylierung reduziert wäre. 200 ml Erythrozyten verbrauchen bei 4° C in 21 Tagen 1 g Glucose (24). Der Dextrosegehalt von ACD und CPD von knapp 2 g/500 ml Blut erfüllt also bei weitem die Anforderungen an die Substratmenge und wird auch für die längere Lagerung ihrer adeninsubstituierten Varianten als ausreichend erachtet (11, 34). Nicht der Substratmangel, sondern die Anhäufung von Lactat und die dadurch geringere ATP-Produktion vermindern die Glykolyserate, da das acide Milieu und die fehlende Sättigung der Hexokinase mit ihrem Coenzym die Aktivität der Schlüsselenzyme herabsetzen (26).

Der Dextrosegehalt der hier verwendeten Stabilisatoren war gestaffelt: ACD, ACD-A, CPD und CPD-A enthielten etwa die gleiche Menge, CPD-A_1 die 1,25-fache und CPD-AD die 1,5-fache Dextrosekonzentration von CPD. Nach 40 Tagen Lagerung bei 4° C lag der Glucosegehalt für alle Stabilisatoren noch über 100 mg %, so daß bis zu diesem Zeitpunkt Sättigung der Hexokinase mit Glucose (K_m = 200 µM) anzunehmen ist. Folgerichtig

ergab der Vergleich von CPD-A und CPD-A_1, die sich nur in ihrem Dextrosegehalt unterschieden, für keinen der gemessenen Parameter eine signifikante Differenz. Die Einordnung der höheren ATP-Werte für CPD-AD und zumal der Vergleich mit ACD-A fällt schwer, da auch der Adenin- und Phosphatgehalt und die Acidität auf die Glykolyserate Einfluß haben (3), in diesen beiden Stabilisatoren also mehrere Komponenten zugleich verändert sind.

Die Ergebnisse der Mikroaggregatmessung blieben bisher unberücksichtigt. Die verhältnismäßig undifferenzierte Meßmethode war so arbeitsaufwendig, daß nur wenige Konserven untersucht wurden und die Spannweite der Einzelmessungen entsprechend groß war. Immerhin zeichnete sich in Übereinstimmung mit früheren Arbeiten (14, 38) ab, daß sich im CPD-Blut mehr bzw. größere Mikroaggregate bilden als im ACD-Blut (Abb. 8). Eine weitere Differenzierung zwischen den Stabilisatoren war mit dieser Arbeitsmethode nicht möglich. Dieser Befund kann in Zusammenhang mit den Kenntnissen über die Entstehung von Mikroaggregaten gebracht werden. Das alkalischere Milieu des CPD-Stabilisators führt zu einer vermehrten Thrombozytenaggregation (37), die als Auslöser der Mikroaggregatbildung angesehen wird (2). Dieser ev. Nachteil der CPD-Stabilisatoren ist jedoch klinisch fragwürdig. Der ätiologische Zusammenhang zwischen Mikroaggregaten und dem akuten Lungenversagen ist bisher nicht eindeutig nachgewiesen worden (7, 17) und eine quantitative Korrelation zwischen beiden bestenfalls nur sehr pauschal herzustellen.

Den beiden Anforderungen an eine Blutkonserve: hoher erythrozytärer ATP- und 2,3-DPG-Spiegel, wurde der CPD-A-Stabilisator am besten gerecht. In ihm ergänzen sich die positiven Effekte des höheren pH-Werts auf den 2,3-DPG-Gehalt und des Adenins auf den ATP-Gehalt. Die adeninfreien Stabilisatoren CPD und ACD waren für den Erhalt von ATP weniger geeignet, in ACD fiel zudem wegen des niedrigeren pH-Werts auch die 2,3-DPG

schneller. Die höhere Adeninkonzentration in CPD-AD brachte keinen Vorteil für den ATP-Gehalt, führte aber ebenfalls zu einer beschleunigten 2,3-DPG-Abnahme. In ACD-A addierten sich die negativen Auswirkungen des niedrigeren pH-Werts und des höheren Adeningehalts auf die 2,3-DPG-Konzentration. Die höhere Dextrosekonzentration in CPD-A_1 und CPD-AD blieb ohne Effekt und ist als überflüssig zu werten.

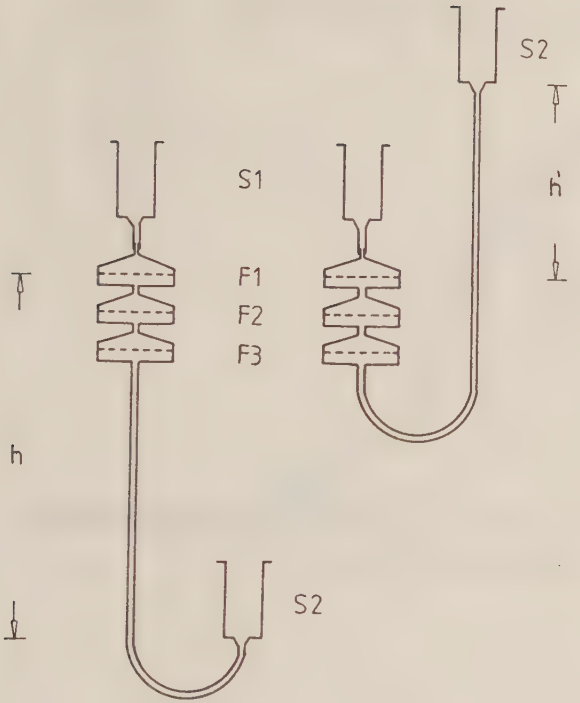
Für die Lagerung von Vollblutkonserven für 5 Wochen ist also nach den vorliegenden Ergebnissen CPD-A als Stabilisatorlösung am besten geeignet.

ZUSAMMENFASSUNG

Durch die vergleichende Untersuchung von Vollblutkonserven, die mit sechs verschiedenen Stabilisatorlösungen hergestellt worden waren (ACD, CPD, ACD-A, CPD-A, CPD-A_1, CPD-AD), sollte der Stabilisator ermittelt werden, der bei längster Lagerungsdauer die beste Qualität der Blutkonserven lieferte. Ausgehend von der Rezeptur entweder des ACD oder des CPD war der Adenin- und Glucosegehalt der Stabilisatoren variiert. Zeitabhängig wurden die ATP- und 2,3-DPG-Konzentrationen und der pH-Wert im Blut gemessen, das quantitative Verhalten des Kalium-, Hämoglobin- und Glucosegehalts im Plasma beobachtet und aus dem Gewicht von Filter-Rückstandsmenge auf die Mikroaggregatbildung geschlossen.

Die beiden Anforderungen an eine Blutkonserve, hoher erythrozytärer ATP- und hoher 2,3-DPG-Gehalt als Indikatoren für die posttransfusionelle Überlebensrate bzw. die intakte Funktion der Erythrozyten, wurden am besten vom CPD-A-Stabilisator erfüllt. In ihm ergänzen sich die positiven Auswirkungen des höheren pH-Werts auf die 2,3-DPG-Konzentration und des Adenins auf die ATP-Konzentration. Die adeninfreien Stabilisatoren CPD und ACD waren für den Erhalt von ATP weniger geeignet, in ACD fiel zudem wegen des niedrigeren pH-Werts auch die 2,3-DPG schneller. Die höhere Adeninkonzentration in CPD-AD brachte keinen Vorteil für den ATP-Gehalt, führte aber ebenfalls zu einer beschleunigten 2,3-DPG-Abnahme. In ACD-A addierten sich die negativen Auswirkungen des niedrigeren pH-Werts und des höheren Adeningehalts auf die 2,3-DPG-Konzentration. Die höhere Dextrosekonzentration im CPD-A_1 und CPD-AD blieb ohne Effekt und ist als überflüssig zu werten.

Für die Lagerung von Vollblutkonserven für 5 Wochen ist nach den vorliegenden Ergebnissen CPD-A als Stabilisatorlösung am besten geeignet.



S_1 Spritze 1
S_2 Spritze 2
F_1 Filtergehäuse 1 mit einer Membran der Maschenweite 50 u
F_2 Filtergehäuse 2 mit einer Membran der Maschenweite 20 u
F_3 Filtergehäuse 3 mit einer Membran der Maschenweite 11 u
h Höhe h = 70 cm
h' Höhe h' = 42 cm

Abb. 1
Versuchsaufbau zur Messung der Mikroaggregate. Linke Seite Anordnung zur Filtration, rechte Seite Anordnung zur Gegenstromfiltration.

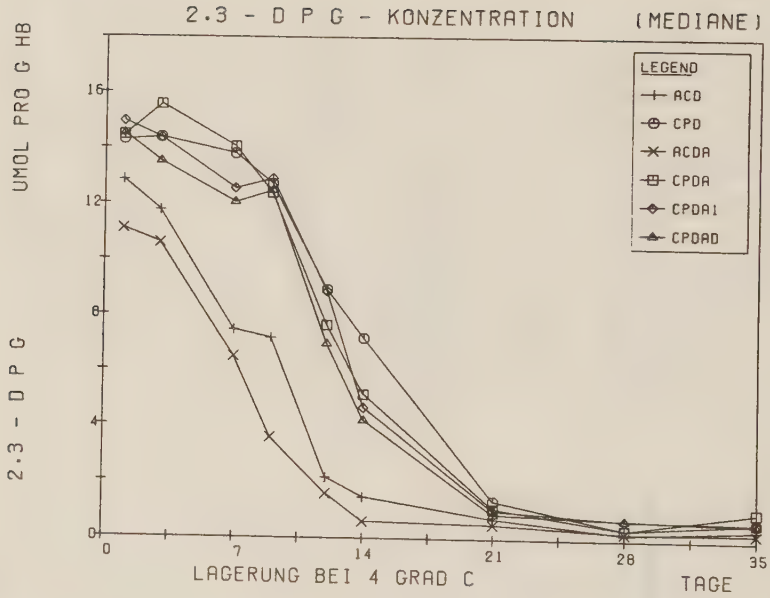


Abb. 2
Verhalten der intraerythrozytären 2,3-DPG-Konzentration während 35 Tagen Lagerung bei 4° C in 6 verschiedenen Stabilisatorlösungen. Mediane; Stichprobenumfang und Spannweite vgl. Tab. 2.

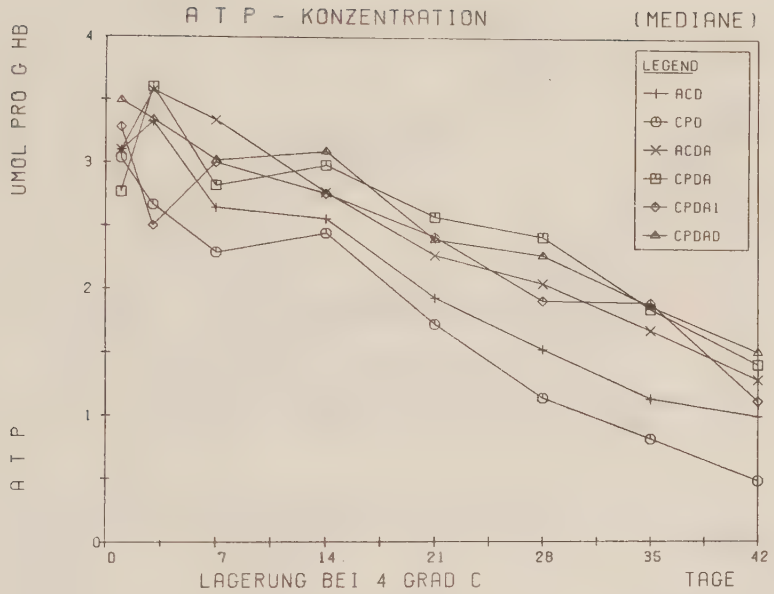
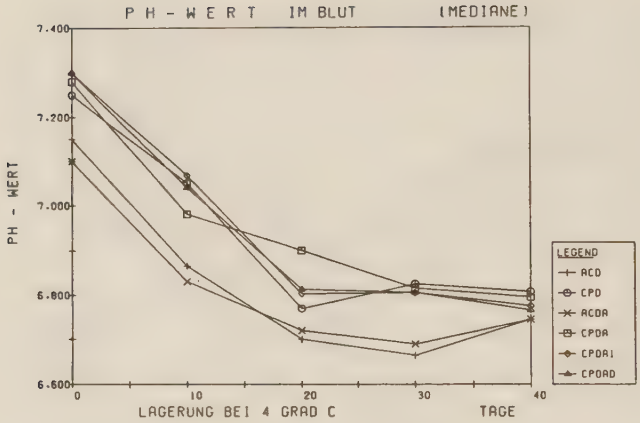


Abb. 3
Verhalten der intraerythrozytären ATP-Konzentration bei Konservierung in 6 verschiedenen Stabilisatoren während 42 Tagen Lagerung bei 4° C. Mediane; Stichprobenumfang und Spannweite vgl. Tab. 3.



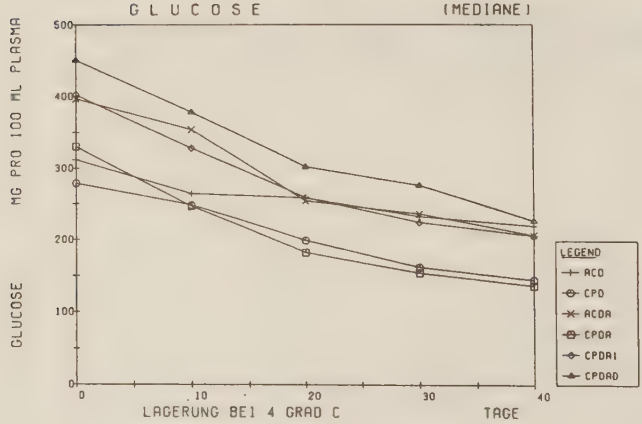
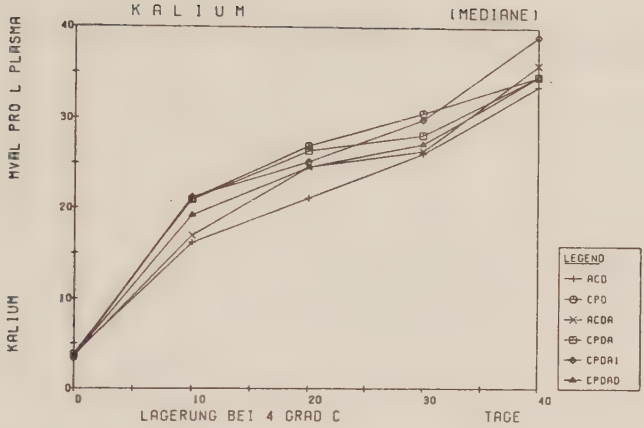


Abb. 4 und 5
Zeitliche Änderung des pH-Werts im Blut und der Glucosekonzentration im Plasma während 40 Tagen Lagerung bei 4° C in 6 unterschiedlichen Stabilisatorlösungen. In Abb. 4 sind die pH-Werte an den Tagen 12, 15, 18 und 25 nicht berücksichtigt. Mediane; Stichprobenumfang und Spannweite vgl. Tab. 4 und 5.



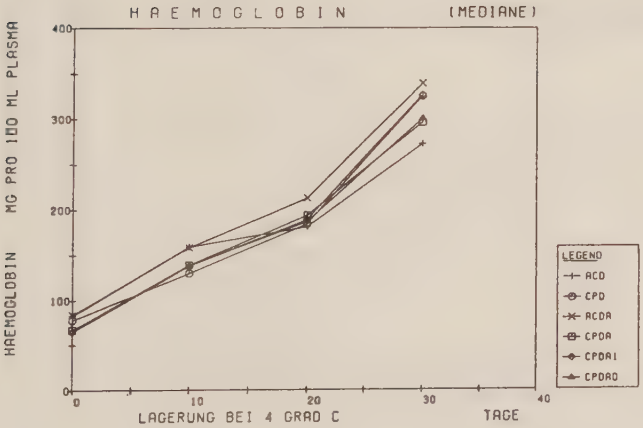


Abb. 6 und 7
Zunahme der Kalium- und Hämoglobinkonzentration im Plasma während 40 bzw. 30 Tagen Lagerung bei 4° C in 6 verschiedenen Stabilisatoren. Mediane; Stichprobenumfang und Spannweite vgl. Tab. 6 und 7.

Abb. 8a

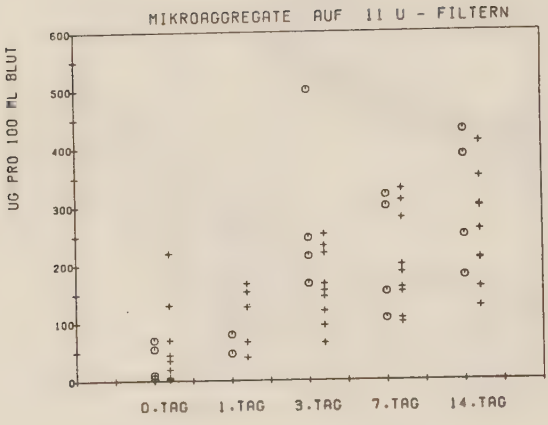


Abb. 8b

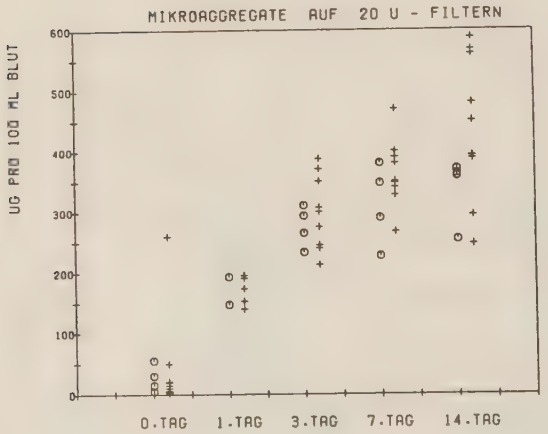


Abb. 8

Verteilung der Rückstandsmengen am 0., 1., 3., 7. und 14. Tag der Lagerung bei 4° C für ACD und ACD-A (o) und CPD, CPD-A, CPD-A_1 und CPD-AD (+). Abb. 8a Rückstandmengen auf 11 µ-Filtern, Abb. 8b auf 20 µ-Filtern, Abb. 8c auf 50 µ-Filtern, Abb. 8d auf allen Filtern zusammen.

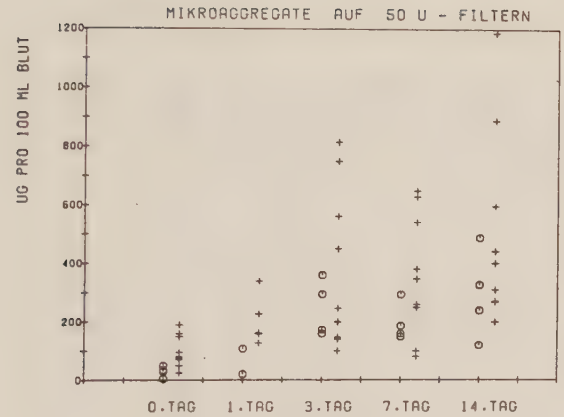

MIKROAGGREGATE AUF 50 U - FILTERN
UG PRO 100 ML BLUT
1200
1000
800
600
400
200
0
0.TAG
1.TAG
3.TAG
7.TAG
14.TAG

Abb. 8c

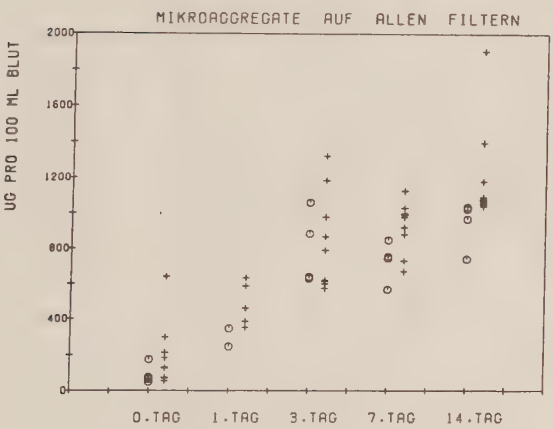

MIKROAGGREGATE AUF ALLEN FILTERN
UG PRO 100 ML BLUT
2000
1600
1200
800
400
0
0.TAG
1.TAG
3.TAG
7.TAG
14.TAG

Abb. 8d

Tabelle 1: Rezepturen der Stabilisatorlösungen der Firma B I O T E S T

Substanzen in g/l	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
Citronensäure	7,3	3,0	7,3	3,0	3,0	3,0
Tri-Natrium-citrat · 2 H_2O	22,0	26,3	22,0	26,3	26,3	26,3
Natrium-dihydrogen-phosphat · H_2O	---	2,22	---	2,22	2,22	2,22
Glucose-Monohydrat	24,5	25,5	24,5	25,5	31,9	38,25
Adenin-Hydrochlorid	---	---	0,52	0,35	0,35	0,56

TABELLE 2 2,3 - D P G IN UMOL / G HB

TAG	N	ACD	CPD	ACDA	CPDA	CPDA1	CPDAD	SIGN
1	8	12.85	14.29	11.11	14.45	14.95	14.49	.017
		6.37	4.51	6.24	7.31	5.89	4.72	
3	6	11.76	14.37	10.59	15.56	14.35	13.50	.007
		6.62	7.31	6.21	8.73	3.91	6.10	
7	10	7.46	13.80	6.49	14.05	12.55	12.05	.000
		6.49	3.70	6.44	4.97	5.75	9.47	
9	6	7.17	12.73	3.57	12.40	12.90	12.48	.000
		6.35	5.58	5.76	6.67	8.34	7.37	
12	6	2.17	8.94	1.58	7.64	8.87	6.97	.000
		6.03	6.71	4.04	6.29	6.41	7.91	
14	9	1.46	7.16	.60	5.12	4.65	4.20	.000
		4.51	6.65	1.89	9.53	7.57	6.29	
21	4	.71	1.34	.51	1.07	1.01	.87	.022
		.85	.82	.54	.88	.70	1.27	
28	4	.22	.38	.25	.38	.70	.71	.412
		.98	.70	.54	.58	1.25	1.30	
35	4	.40	.67	.28	1.03	.66	.60	.162
		.91	.92	.68	.70	.82	.68	

Tab. 2
Abnahme der 2,3-DPG-Konzentration der Erythrozyten während 35 Tagen Lagerung bei 4° C in 6 verschiedenen Stabilisatoren. N = Anzahl der Spender. Erste Zeile Median, zweite Zeile Spannweite der Einzelmessungen. SIGN = Signifikanzniveau des Vergleichs aller Stabilisatoren mit dem Friedmantest.

TABELLE 3 A T P IN UMOL / G HB

TAG	N	ACD	CPD	ACDA	CPDA	CPDA1	CPDAD	SIGN
1	8	3.10	3.04	3.10	2.77	3.28	3.49	.226
		2.17	1.91	1.51	2.43	1.73	1.68	
3	4	3.33	2.67	3.57	3.60	2.50	3.34	.156
		.89	.92	1.06	.75	1.41	.92	
7	6	2.64	2.29	3.34	2.82	3.00	3.02	.061
		1.11	1.30	.73	.88	.97	1.43	
14	6	2.56	2.44	2.77	2.98	2.76	3.09	.021
		1.46	2.03	1.24	1.05	1.47	1.28	
21	9	1.93	1.72	2.26	2.57	2.41	2.39	.000
		1.18	1.41	1.28	1.13	.84	1.11	
28	9	1.52	1.14	2.04	2.41	1.91	2.27	.000
		1.71	1.48	1.59	1.39	1.76	2.04	
35	9	1.13	.81	1.67	1.84	1.89	1.87	.000
		1.39	1.14	1.68	1.40	2.10	1.45	
42	7	.99	.48	1.28	1.40	1.11	1.50	.000
		.61	.75	1.22	1.09	.74	.86	

Tab. 3

Abnahme der ATP-Konzentration der Erythrozyten während einer Lagerungsdauer von 42 Tagen bei 4° C in 6 unterschiedlichen Stabilisatoren. N = Anzahl der Spender. Erste Zeile Median, zweite Zeile Spannweite der Einzelmessungen. SIGN = Signifikanzniveau des Vergleichs aller Stabilisatoren mit dem Friedmantest.

TABELLE 4 P H - W E R T

TAG	N	ACD	CPD	ACDA	CPDA	CPDA1	CPDAD	SIGN
0	7	7.15	7.25	7.10	7.28	7.30	7.30	.006
		.29	.29	.54	.32	.35	.41	
10	7	6.87	7.05	6.83	6.98	7.07	7.04	.000
		.22	.30	.33	.32	.39	.28	
12	2	6.92	7.08	6.95	7.13	7.07	7.10	
		.20	.06	.21	.25	.15	.17	
15	2	6.86	6.97	6.84	6.97	6.93	6.92	
		.05	.00	.03	.00	.04	.00	
18	2	6.86	6.90	6.77	6.93	6.86	6.89	
		.01	.05	.11	.02	.05	.02	
20	7	6.70	6.77	6.72	6.90	6.80	6.81	.016
		.26	.30	.37	.26	.23	.31	
25	2	6.72	6.81	6.81	6.87	6.80	6.80	
		.05	.01	.09	.07	.02	.03	
30	6	6.67	6.83	6.69	6.82	6.81	6.81	.003
		.39	.31	.34	.25	.25	.26	
40	6	6.75	6.81	6.75	6.80	6.78	6.77	.045
		.22	.10	.09	.13	.15	.19	

Tab. 4
Änderung des pH-Werts im Blut bei Konservierung in 6 verschiedenen Stabilisatoren während 40 Tagen Lagerung bei 4° C. N = Anzahl der Spender. Erste Zeile Median, zweite Zeile Spannweite der Einzelmessungen. SIGN = Signifikanzniveau des Vergleichs aller Stabilisatoren mit dem Friedmantest.

TABELLE 5 G L U C O S E IN MG / 100 ML PLASMA

TAG	N	ACD	CPD	ACDA	CPDA	CPDA1	CPDAD	SIGN
0	7	312.	279.	396.	330.	402.	450.	.000
		142.	116.	188.	152.	154.	246.	
10	7	264.	248.	354.	246.	328.	378.	.000
		90.	114.	192.	113.	150.	230.	
20	7	258.	199.	254.	182.	259.	302.	.001
		117.	293.	154.	72.	94.	206.	
30	7	232.	162.	236.	154.	224.	276.	.000
		78.	214.	114.	80.	106.	182.	
40	2	219.	144.	206.	136.	205.	226.	
		2.	28.	8.	4.	10.	12.	

Tab. 5
Abnahme der Glucosekonzentration im Plasma als Maß für die Glucoseutilisation der Erythrozyten während 40 Tagen Lagerung bei 4° C in 6 verschiedenen Stabilisatoren. N = Anzahl der Spender. Erste Zeile Median, zweite Zeile Spannweite der Einzelmessungen. SIGN = Signifikanzniveau des Vergleichs aller Stabilisatoren mit dem Friedmantest.

TABELLE 6 K A L I U M IN MVAL / L PLASMA

TAG	N	ACD	CPD	ACDA	CPDA	CPDA1	CPDAD	SIGN
0	7	3.80	3.50	3.60	3.80	3.60	3.60	.167
		2.20	1.00	1.50	1.60	2.70	1.70	
10	7	16.10	21.00	16.89	20.91	21.23	19.16	.001
		4.20	8.75	7.35	4.61	4.55	5.30	
20	7	21.15	27.00	24.60	26.40	25.20	24.60	.006
		11.40	9.60	8.40	15.60	10.20	6.00	
30	7	26.10	30.60	26.40	28.20	29.90	27.23	.010
		11.50	8.40	10.00	10.00	8.60	19.37	
40	2	33.55	34.65	35.90	34.65	39.05	34.65	
		1.10	5.50	7.40	3.30	5.50	1.10	

TABELLE 7 H A E M O G L O B I N IN MG / 100 ML

TAG	N	ACD	CPD	ACDA	CPDA	CPDA1	CPDAD
0	7	83.	78.	84.	67.	65.	66.
		82.	64.	104.	71.	46.	78.
10	5	159.	130.	158.	139.	138.	138.
		41.	45.	74.	69.	44.	32.
20	5	181.	184.	213.	194.	189.	187.
		74.	36.	98.	48.	38.	44.
30	5	272.	325.	339.	296.	326.	300.
		105.	47.	119.	85.	74.	75.

Tab. 6 und 7
Zunahme der Kalium- und Hämoglobinkonzentration im Plasma während 40 bzw. 30 Tagen Lagerung bei 4° C in 6 unterschiedlichen Stabilisatorlösungen. N = Anzahl der Spender. Erste Zeile Median, zweite Zeile Spannweite der Einzelmessungen. SIGN = Signifikanzniveau des Vergleichs aller Stabilisatorlösungen mit dem Friedmantest.

Tab. 8a 2,3-DPG/Tag 1

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	-	+	+	-	-
CPD	-	*	-	-	-	-
ACD-A	+	-	*	+	+	-
CPD-A	+	-	+	*	-	-
CPD-A_1	-	-	+	-	*	-
CPD-AD	-	-	-	-	-	*

Tab. 8b 2,3-DPG/Tag 3

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	-	+	+	+	-
CPD	-	*	+	-	-	-
ACD-A	+	+	*	+	+	+
CPD-A	+	-	+	*	-	-
CPD-A_1	+	-	+	-	*	-
CPD-AD	-	-	+	-	-	*

Tab. 8c 2,3-DPG/Tag 7

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	++	++	++	++	++
CPD	++	*	++	-	-	-
ACD-A	++	++	*	++	++	++
CPD-A	++	-	++	*	-	-
CPD-A_1	++	-	++	-	*	-
CPD-AD	++	-	++	-	-	*

Tab. 8d 2,3-DPG/Tag 9

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	+	+	+	+	+
CPD	+	*	+	-	-	-
ACD-A	+	+	*	+	+	+
CPD-A	+	-	+	*	-	-
CPD-A_1	+	-	+	-	*	-
CPD-AD	+	-	+	-	-	*

Tab. 8e 2,3 DPG/Tag 12

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	+	+	+	+	+
CPD	+	*	+	-	-	-
ACD-A	+	+	*	+	+	+
CPD-A	+	-	+	*	-	-
CPD-A_1	+	-	+	-	*	-
CPD-AD	+	-	+	-	-	*

Tab. 8f 2,3-DPG/Tag 14

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	++	++	++	++	++
CPD	++	*	++	-	+	++
ACD-A	++	++	*	++	++	++
CPD-A	++	-	++	*	-	-
CPD-A_1	++	+	++	-	*	-
CPD-AD	++	++	++	-	-	*

Tab. 8

Signifikanzniveaus des paarweisen Vergleichs der 2,3-DPG-Werte aller Stabilisatoren mit dem Wilcoxontest für abhängige Stichprobenpaare an den Tagen 1, 3, 7, 9, 12 und 14. Gruppenvergleiche mit dem Friedmantest sind berücksichtigt. + $p \leq 0{,}05$, ++ $p \leq 0{,}01$, - kein statistisch signifikanter Unterschied auf dem 5 %-Niveau.

Tab. 9a ATP/Tag 14

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	-	-	+	-	+
CPD	-	*	-	+	+	+
ACD-A	-	-	*	-	-	-
CPD-A	+	+	-	*	-	-
CPD-A_1	-	+	-	-	*	-
CPD-AD	+	+	-	-	-	*

Tab. 9b ATP/Tag 21

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	+	+	++	++	++
CPD	+	*	+	++	++	++
ACD-A	+	+	*	-	-	+
CPD-A	++	++	-	*	-	-
CPD-A_1	++	++	-	-	*	-
CPD-AD	++	++	+	-	-	*

Tab. 9c ATP/Tag 28

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	-	+	++	++	++
CPD	-	*	++	++	++	++
ACD-A	+	++	*	-	-	++
CPD-A	++	++	+	*	-	-
CPD-A_1	++	++	-	-	*	-
CPD-AD	++	++	++	-	-	*

Tab. 9d ATP/Tag 35

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	-	+	++	++	++
CPD	-	*	+	++	++	++
ACD-A	+	+	*	-	-	-
CPD-A	++	++	-	*	-	-
CPD-A_1	++	++	-	-	*	-
CPD-AD	++	++	-	-	-	*

Tab. 9e ATP/Tag 42

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	-	+	-	-	+
CPD	-	*	+	+	+	+
ACD-A	+	+	*	-	-	-
CPD-A	-	+	-	*	-	-
CPD-A_1	-	+	-	-	*	-
CPD-AD	+	+	-	-	-	*

Tab. 9

Signifikanzniveaus des paarweisen Vergleichs der ATP-Werte aller Stabilisatoren mit dem Wilcoxontest für abhängige Stichprobenpaare an den Tagen 14, 21, 28, 35 und 42. Gruppenvergleiche mit dem Friedmantest sind berücksichtigt. + $p \leq 0{,}05$, ++ $p \leq 0{,}01$, - kein statistisch signifikanter Unterschied auf dem 5 %-Niveau.

Tab. 10a pH/Tag 0

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	+	-	+	-	+
CPD	+	*	-	-	-	-
ACD-A	-	-	*	+	-	+
CPD-A	+	-	+	*	-	-
CPD-A_1	-	-	-	-	*	-
CPD-AD	+	-	+	-	-	*

Tab. 10b pH/Tag 10

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	+	-	+	+	+
CPD	+	*	+	-	-	-
ACD-A	-	+	*	+	+	+
CPD-A	+	-	+	*	-	-
CPD-A_1	+	-	+	-	*	-
CPD-AD	+	-	+	-	-	*

Tab. 10c pH/Tag 20

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	-	-	+	+	+
CPD	-	*	-	-	-	-
ACD-A	-	-	*	-	-	-
CPD-A	+	-	-	*	-	-
CPD-A_1	+	-	-	-	*	-
CPD-AD	+	-	-	-	-	*

Tab. 10d pH/Tag 30

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	+	-	-	-	-
CPD	+	*	+	+	+	+
ACD-A	-	+	*	+	+	+
CPD-A	-	+	+	*	-	-
CPD-A_1	-	+	+	-	*	-
CPD-AD	-	+	+	-	-	*

Tab. 10e pH/Tag 40

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	-	-	+	-	-
CPD	-	*	+	-	-	-
ACD-A	-	+	*	+	-	-
CPD-A	+	-	+	*	-	-
CPD-A_1	-	-	-	-	*	-
CPD-AD	-	-	-	-	-	*

Tab. 10

Signifikanzniveaus des paarweisen Vergleichs der pH-Werte aller Stabilisatoren mit dem Wilcoxontest für abhängige Stichprobenpaare an den Tagen 0, 10, 20, 30 und 40. Gruppenvergleiche mit dem Friedmantest sind berücksichtigt. + $p \leq 0{,}05$, - kein statistisch signifikanter Unterschied auf dem 5 %-Niveau.

Tab. 11a Glucose/Tag 0

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	-	-	-	+	+
CPD	-	*	+	-	+	+
ACD-A	-	+	*	-	-	+
CPD-A	-	-	-	*	+	+
CPD-A_1	+	+	-	+	*	+
CPD-AD	+	+	+	+	+	*

Tab. 11b Glucose/Tag 10

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	-	+	-	+	+
CPD	-	*	+	-	+	+
ACD-A	+	+	*	+	-	-
CPD-A	-	-	+	*	+	+
CPD-A_1	+	+	-	+	*	+
CPD-AD	+	+	-	+	+	*

Tab. 11c Glucose/Tag 20

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	-	-	+	-	-
CPD	-	*	-	-	-	-
ACD-A	-	-	*	+	-	+
CPD-A	+	-	+	*	+	+
CPD-A_1	-	-	-	+	*	+
CPD-AD	-	-	+	+	+	*

Tab. 11d Glucose/Tag 30

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	-	-	+	-	+
CPD	-	*	-	-	-	-
ACD-A	-	-	*	+	-	-
CPD-A	+	-	+	*	+	+
CPD-A_1	-	-	-	+	*	+
CPD-AD	+	-	-	+	+	*

Tab. 12a Kalium im Plasma/Tag 10

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	+	-	+	+	+
CPD	+	*	+	-	-	-
ACD-A	-	+	*	+	+	-
CPD-A	+	-	+	*	-	-
CPD-A_1	+	-	+	-	*	-
CPD-AD	+	-	-	-	-	*

Tab. 12b Kalium im Plasma/Tag 20

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	+	-	+	+	+
CPD	+	*	-	-	-	-
ACD-A	-	-	*	-	+	-
CPD-A	+	-	-	*	-	-
CPD-A_1	+	-	+	-	*	-
CPD-AD	+	-	-	-	-	*

Tab. 12c Kalium im Plasma/Tag 30

	ACD	CPD	ACD-A	CPD-A	CPD-A_1	CPD-AD
ACD	*	+	-	-	-	-
CPD	+	*	-	-	-	+
ACD-A	-	-	*	-	+	-
CPD-A	-	-	-	*	-	-
CPD-A_1	-	-	+	-	*	-
CPD-AD	-	+	-	-	-	*

Tab. 11, Tab. 12

Signifikanzniveaus des paarweisen Vergleichs der Kalium- und Glucosewerte aller Stabilisatoren mit dem Wilcoxontest für abhängige Stichprobenpaare an den Tagen 0, 10, 20 und 30. Gruppenvergleiche mit dem Friedmantest sind berücksichtigt. + $p \leq 0{,}05$, - kein statistisch signifikanter Unterschied auf dem 5 %-Niveau.

Tab. 13a 2,3-DPG/Meßtage 1, 3, 7, 9, 12, 14, 21

CPD/CPD-A/CPD-A_1/CPD-AD						
1	3	7	9	12	14	21
-	-	-	-	-	+++	+

CPD-A/CPD-A_1/CPD-AD						
1	3	7	9	12	14	21
-	-	-	-	-	+	-

Tab. 13b ATP/Meßtage 14, 21, 28, 25, 42

ACD-A/CPD-A/CPD-A_1/CPD-AD				
14	21	28	35	42
-	-	+	-	-

Tab. 13

Ergebnisse der Friedmanschen Rangvarianzenanalyse für mehrere abhängige Stichproben. Die Gruppe der miteinander verglichenen Stabilisatoren ist jeweils angegeben. + $p \leq 0{,}05$, ++ $p \leq 0{,}01$, +++ $p \leq 0{,}001$, - kein statistisch signifikanter Unterschied auf dem 5 %-Niveau. Die adeninhaltigen CPD-Stabilisatoren unterscheiden sich in ihrem 2,3-DPG-Gehalt nur am Tag 14 schwach voneinander, so daß der hochsignifikante Unterschied am Tag 14 innerhalb der gesamten CPD-Gruppe auf das nicht substituierte CPD zurückzuführen ist (13a). Die vier adeninsubstituierten Stabilisatoren unterscheiden sich in ihrem ATP-Gehalt nur am Tag 28 schwach voneinander (13b).

LITERATURVERZEICHNIS

1. Akerblom, O.
   Kreuger, A.
   Studies on citrate-phosphate-dextrose (CPD) blood supplement with adenine
   Vox Sang. 29:90-100 (1975)

2. Arrington, P.
   McNamara, J.J.
   Mechanism of microaggregate formation in stored blood
   Ann. Surg.179:146-148 (1974)

3. Brewer, G.J.
   in Surgenor, D.M.: "The red blood cell"
   (Academic Press, New York 1974)

4. Bücher, Th.
   Determination of ATP in erythrocytes
   Biochim.biophys.Acta 1:292-314 (1947)

5. Chanutin, A.
   Curnish, R.R.
   Effect of organic and inorganic phosphates on the oxygen equilibrium of human erythrocytes
   Arch.Biochem. 121:96-102 (1967)

6. Collins, J.A.
   Abnormal hemoglobin-oxygen affinity and surgical hemotherapy
   Bibl.haemat.46:59-69 (1980)

7. Collins, J.A.
   Pulmonary dysfunction and massive transfusion
   Bibl.haemat.46:220-227 (1980)

8. Collins, J.A.
   Pertinent recent developments in blood banking
   Surg.Clin.N.Amer. 63:483-495 (1983)

9. Combrisson, A.
   Solutions anticoagulantes A.C.D. et C.P.D.
   Rev.franc.Transf. 14:483-489 (1971)

10. Dawson, R.B.
    Kocholaty, W.F.
    Gray, J.L.
    Hemoglobin function and 2,3-DPG levels of blood stored at 4 C in ACD and CPD. pH effect
    Transfusion 10:299-304 (1970)

11. Dawson, R.B.
    Hershey, R.T.
    Myers, C.
    Holmes, S.
    Blood preservation XXVI. CPD-adenine packed cells: Benefits of increasing the glucose
    Transfusion 18:339-346 (1978)

12. Dern, R.J.
Brewer, G.J.
Wiorkowski, J.J.
Studies on the preservation of human blood. II. The relationship of erythrocyte adenosine triphosphate levels and other in vitro measures to red cell storageability
J.Lab.clin.Med. 69:968-978 (1967)

13. Ericson, A.
de Verdier, C.-H.
A modified method for the determination of 2,3-diphosphoglycerate in erythrocytes
Scand.J.clin.Lab.Invest. 29: 85-90 (1972)

14. Gervin, A.S.
Mason, K.G.
Wright, C.B.
Microaggregate volumes in stored human blood
Surg.Gynec.Obstet. 139:519-524 (1974)

15. Gibson, J.G.
Rees, S.B.
McManus, T.J.
Scheitlin, W.A.
A citrate-phosphate-dextrose solution for the preservation of human blood
Amer.J.clin.Path. 28:569-78 (1957)

16. Högman, C.F.
Akerblom, O.
Arturson, G.
de Verdier, C.-H.
Kreuger, A.
Westman, M.
in Greenwalt, T.J., Jamieson, G.A.: "The human red cell in vitro"
(Grune & Stratton, New York 1974)

17. International Forum
Does a relationship exist between massive blood transfusions and the adult respiratory distress syndrome? If so, what are the best preventive measures?
Vox Sang. 32:311-320 (1977)

18. International Forum
What is the clinical importance of alteration of the hemoglobin oxygen affinity in preserved blood-especially as produced by variations of red cell 2,3 DPG content?
Vox Sang. 34:111-127 (1978)

19. Laver, M.B.
A fable of our time: Oxygen transport, or does the emperor have new clothes?
Anesthesiology 36: 105-106 (1972)

20. Lundsgaard-Hansen, P. — Gefährdungen der Sauerstoffversorgung chirurgischer Patienten
Folia haemat. (Lpz.):942-950 (1982)

21. Martsch, E. — Rejuvenation Verfallener Blutkonserven. Biochemische, Physiologische Und Klinische Ergebnisse
med. Diss. (Berlin 1982)

22. de Mendonca, M.
Appel, M.
Bidault, J.
Masson-Pierre, D.
Terrier, E. — Maintenance of 2,3-DPG and ATP levels in blood stored for 30 days at a constant pH obtained by variation of CO_2
Vox Sang. 35:184-192 (1978)

23. Messeter, L.
Ugander, L.
Monti, M.
Lundh, B.
Löw, B. — CPD-adenine as a blood preservative-studies in vitro and in vivo
Transfusion 17:210-217 (1977)

24. Mollison, P.L. — Blood transfusion in clinical medicine
(Blackwell Scientific Publications, Oxford 1972)

25. Moore, G.L.
Ledford, M.E.
Brooks, D.E. — The distribution and utilization of adenin in red blood cells during 42 days of 4 C storage
Transfusion 18:538-545 (1978)

26. Nakao, M.
Nakayama, T. — Decrease in phosphofructokinase activity during blood preservation and the effect of intracellular ATP
Biochem.biophys.Res.Commun. 95:1294-1298 (1980)

27. Nakao, K.
Wada, T.
Kamiyama, T. — A direct relationship between adenosine triphosphate-level and in vivo viability of erythrocytes
Nature 194:877-878 (1962)

28. Perutz, M.F. — Stereochemistry of cooperative effects in haemoglobin. The bohr effect and combination with organic phosphates
Nature 228:734-739 (1970)

29. Rapoport, S.
The regulation of glykolysis in mammalian erythrocytes. IV. The 2,3-diphosphoglycerate bypass
Essays Biochem. 4:88-92 (1968)

30. Rose, I.A.
Warms, J.V.B.
O'Connell, E.L.
Role of inorganic phosphate in stimulating the glucose utilization of human red blood cells
Biochem.biophys.Res.Commun. 15:33-37 (1964)

31. Ross, J.F.
Finch, C.A.
Peacock, W.C.
Sammons, M.E.
In vitro preservation and post-transfusion survival of stored blood
J.clin.Invest. 26:687-703 (1947)

32. Rous, P.
Turner, J.T.
The preservation of living red blood cells in vitro. II. The transfusion of kept cells
J.exp.Med. 23:239-248 (1916)

33. Shafer, A.W.
Tague, L.L.
Welch, M.H.
Guenter, C.A.
2,3-diphosphoglycerate in red cells stored in acid-citrate-dextrose and citrate-phosphate-dextrose: Implications regarding delivery of oxygen
J.Lab.clin.Med. 77:430-437 (1971)

34. Shields, C.E.
Comparison studies of whole blood stored in ACD and CPD and with adenine
Transfusion 8:1-8 (1968)

35. Siegel, S.
Nichtparametrische statistische Methoden
(Fachbuchhandlung für Psychologie, Frankfurt/M. 1976)

36. Simon, E.R.
Chapman, R.G.
Finch, C.A.
Adenine in red cell preservation
J.clin.Invest. 41:351-359 (1962)

37. Skoza, L.
Zucker, M.B.
Jerushalmy, Z.
Grant, R.
Kinetic studies of platelet aggregation induced by adenosine diphosphate and its inhibition by chelating agents, guanidino compounds, and adenosine
Thrombos.Diathes.haemorrh. 18:713-725 (1967)

38. Solis, R.T.
Goldfinger, D.
Gibbs, M.B.
Zeller, J.A.
Physical characteristics of microaggregates in stored blood
Transfusion 14:538-550 (1974)

39. Sugita, Y.
Simon, E.R.
The mechanism of action of adenine in red cell preservation
J.clin.Invest. 44:629-642 (1965)

40. Thomas, L.
Labor und Diagnose
(Die Medizinische Verlagsgesellschaft, Marburg/Lahn 1978)

41. Valeri, C.R.
in Surgenor, D.M.: "The red blood cell"
(Academic Press, New York 1974)

42. Walker, W.H.
(persönl. Mitt.)

43. Warner, W.L.
Toxicology and pharmacology of adenine in animals and man
Transfusion 17:326-332 (1977)

44. Zuck, T.F.
Bensinger, T.A.
Peck, C.C.
Chillar, R.K.
Beutler, E.
Button, L.N.
McCurdy, P.R.
Josephson, A.M.
Greenwalt, T.J.
The in vivo survival of red blood cells stored in modified CPD with adenine: Report of a multi-institutional cooperative effort
Transfusion 17:374-382 (1977)

LEBENSLAUF

Ruth Irene Friedl T h i e r o f f, geb. Stockmeier

geb. am 11.5.1957 in Hof/S. als viertes Kind des Dr. med. Fritz Stockmeier und seiner Ehefrau Margarete

1963-67	Volksschule Geroldsgrün
1967-76	Gymnasium Naila
1976	Abitur
1976-79	Studium der Humanmedizin an der Universität Erlangen
1979	Physikum
1979-84	Studium der Humanmedizin an der FU Berlin
1980	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
1982	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
4/1984	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Ab 15.1.1985 Wissenschaftliche Mitarbeiterin der Fa. Schering, Abteilung für Entzündungspharmakologie und Immunbiologie

1983	Heirat von Gerhard Thieroff
	Geburt des ersten Kindes

DANKSAGUNG

Herrn Prof.Dr.med. Immo Hoppe danke ich für die Überlassung des Themas und für seine stets freundliche und kritisch engagierte Beratung und Unterstützung bei der Fertigstellung der Arbeit.

Bei der statistischen Aufarbeitung der Ergebnisse wurde ich durch das Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation der Freien Universität Berlin (Leiter: Prof.Dr. G. Fuchs) und durch Herrn Reinhard Hartmann beraten. Ihm danke ich auch für die Ausführung der statistischen Tests und für die Erstellung von Tabellen und Abbildungen.

Frau G. Diederich und Frau H. Postels danke ich für ihre Hilfsbereitschaft und ihre Ratschläge bei der Durchführung der Versuche.

Herrn Prof.Dr.med. R. Thom und Herrn Prof.Dr.med. S. Schuchardt danke ich für beratende Gespräche.

Papyrus-Druck GmbH Berlin ☎ 3416451
Dissertationen